



Análise de uma cisteíno-protease de 39 kDa identificada em bancos de cDNA do cacau

Milena do Amaral Santos¹, Fabienne Micheli², Carlos Priminho Pirovani³, Júlio César de Mattos Cascardo⁴

¹ Discente do curso de Ciências Biológicas, e-mail: miliamarale@bol.com.br, ² Docente Programa de Pós-graduação em Genética e Biologia Molecular, e-mail: fabienne.micheli@cirad.fr, ³ Docente Departamento de Ciências Biológicas/UESC, e-mail: pirovani@uesc.br, ⁴ Docente Departamento Ciências Biológicas/UESC, e-mail: cascardo@labbi.uesc.br

As cisteíno-proteases são aquelas que usam uma cisteína do sítio ativo como nucleófilo durante a catálise. Os genomas de plantas codificam cerca de 140 cisteíno-proteases. Estas enzimas podem estar envolvidas na ativação de outras enzimas, em defesa contra ataque de insetos, em morte celular programada, defesa contra patógeno e germinação de sementes. Além disso, elas apresentam importância biotecnológica em indústria de alimentos, têxtil, farmacêutica e de detergentes. Uma cisteíno-protease denominada TcCysPr04 foi identificada em bibliotecas de cDNA da interação entre *Theobroma cacao* e *Moniliophthora perniciosa* seqüenciadas na UESC. Esse trabalho objetivou novos homólogos da proteína CISPR04 identificadas em bibliotecas de cDNA coordenadas pelo CIRAD e publicadas recentemente. Os homólogos de TcCysPr04 apresentaram ORF's com 1068 pb, conforme análise com o ORF Finder. A análise da sequência de aminoácidos deduzida a partir da sequência de nucleotídeos indica que: (i) a proteína possui massa molecular e ponto isoelétrico estimados de 39 kDa e 5.43, respectivamente, de acordo com programa pI/MW; (ii) possui um peptídeo sinal, com provável sítio de clivagem entre os aminoácidos 19 e 20, revelados pelo programa SignalP 2.0; e (iii) possui um domínio inibitório entre os aminoácidos 56 e 112 e um domínio catalítico entre os aminoácidos 158 e 353, identificados mediante análise com os programas Pfam e ProDom. Primers foram engenheirados a partir de um mapa de restrição preparado com o WebCutter, visando a clonagem e expressão de três versões da proteína: (i) a proteína completa (eliminando o peptídeo sinal); (ii) somente o domínio inibitório; e (iii) somente o domínio catalítico. Na continuidade desse trabalho essas versões deverão ser expressas em bactéria e empregadas em estudos de caracterização bioquímica e funcional da proteína.

Palavras-Chave: Bioinformática, estratégia de clonagem, protease.
Agência Financiadora: CAPES, CNPq, FAPESB e UESC.